昆 虫 学 报 Acta Entomologica Sinica，October 2006，49(5)：768－774 ISSN 0454-6296

麦长管蚜唾液中几种酶的鉴定、活力测定与功能分析

郭光喜，刘 勇*，杨景娟，马向真
（山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018）

摘要：用 Parafilm 膜夹营养液法，以两种食料介质饲喂麦长管蚜 *Macrosiphum avenae* 3 龄若蚜并收集其唾液，对唾液中的酶类进行了鉴定、活力测定和功能分析。结果表明，在 20% 蔗糖介质提取液中，鉴定有果胶酶、多酚氧化酶和纤维素酶；在水介质提取液中鉴定有纤维素酶；两种介质提取液中都未鉴定出过氧化物酶。酶活力测定结果表明，在 20% 蔗糖介质提取液中，每 30 头蚜虫分泌的果胶酶、多酚氧化酶和纤维素酶的酶活力分别为 2.59×10^{-3} U/g、7×10^{-3} U/g 和 7.89×10^{-3} U/g；在水介质提取液中，纤维素酶活力为 3.68×10^{-3} U/g。行为反应试验结果表明，果胶酶处理麦苗的挥发物组分能引起麦长管蚜寄生性天敌燕麦蚜茧蜂 *Aphidius avenae* 和捕食性天敌七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* 的嗅觉偏好反应，因此，果胶酶在麦长管蚜取食诱导小麦植株的间接防御反应中具有重要作用。

关键词：麦长管蚜；燕麦蚜茧蜂；七星瓢虫；果胶酶；纤维素酶；多酚氧化酶；酶活力；行为反应
中图分类号：Q965 文献标识码：A 文章编号：0454-6296(2006)05-0768-07

Identification, activity and function determination of several salivary enzymes secreted by *Macrosiphum avenae*

GUO Guang-Xi, LIU Yong*, YANG Jing-Juan, MA Xiang-Zhen (College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: Parafilm method was adopted for feeding the third instar nymphs of *Macrosiphum avenae* on two liquid diets (20% sucrose and redistilled water). Their saliva after feeding for 24 h was collected and assayed identifying salivary enzymes and determining their activities. The results showed that pectinase, polyphenol oxidase and cellulase were identified in 20% sucrose diet; cellulase was identified in redistilled water diet; peroxidase was not identified in both diets. The activities of pectinase, polyphenol oxidase and cellulase secreted into 20% sucrose diet by 30 aphids were 2.59×10^{-3} U/g, 7×10^{-3} U/g and 7.89×10^{-3} U/g, respectively; and cellulase activity secreted into redistilled water diet by 30 aphids was 3.68×10^{-3} U/g. In the behavioral response test, the predator *Coccinella septempunctata* and parasitoid *Aphidius avenae* of *M. avenae* showed much preference for the volatiles in wheat seedlings treated by pectinase. It was so concluded that pectinase secreted by *M. avenae* play an important role in wheat plant indirect defense induced by aphid feeding.

Key words: *Macrosiphum avenae*; *Aphidius avenae*; *Coccinella septempunctata*; pectinase; cellulase; polyphenol oxidase; enzyme activity; behavioral response

植物经常受到植食者的危害。尽管植物有结构防御（constitutive defence），但是作为对植食者的回应，一种重要的策略是诱导防御（induced defence）（Karban and Baldwin，1997）。诱导防御既可降低植物的防御成本，又能避免其他有害生物利用植物固有的防御特性，使之成为对它们自己有利的因素（Karban and Baldwin，1997；Cipollini *et al*.，2003；Zangerl，2003）。植物的诱导防御可分为两大类，一是诱导直接防御，它能直接影响植食性昆虫的生物学特性；另一类是诱导间接防御，即植物通过吸引植食者的天敌，提高天敌的搜寻成功率，成功控制植食者种群的特性（Karban and Baldwin，1997；Dicke

基金项目：国家自然科学基金项目（30200180）；山东省中青年科学家科研奖励基金项目（2004BS0169）
作者简介：郭光喜，男，1980 年 1 月生，硕士研究生，研究方向为昆虫化学生态学，E-mail：aphid@sdau.edu.cn
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：liuyong@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2005-12-15；接受日期 Accepted：2006-05-15

and Vet，1999）。植物被诱导的直接和间接防御反应，可由昆虫口腔分泌物诱导，这已在螨类和几种鳞翅目昆虫的研究中得到证实（Mattriacci *et al*.，1995；Alborn *et al*.，1997；Felton and Eichenseer，1999；Turlings *et al*.，2000；Halitschke *et al*.，2001）。

在研究植物对外界生物因子胁迫的反应时，刺吸类昆虫代表一大特殊的类群。蚜虫是刺吸类害虫最大的一类，在细胞间穿刺和取食过程中分泌唾液，并使许多农作物的适合度降低（Miles，1999）。在蚜虫唾液中，最重要的组成部分是酶类，主要包括果胶酶、多酚氧化酶和过氧化物酶，另外还可能含有纤维素酶、淀粉酶和蔗糖酶等（Ma *et al*.，1998；Urbanska *et al*.，1998；Miles，1999），它们在蚜虫的取食、消化、代谢与自身解毒过程中起着非常重要的作用（Miles，1989）。蚜虫唾液中的酶类还可能与植物产生诱导性防御有关（Ma *et al*.，1998；Miles，1999；Lintle and van der Westhuizen，2002）。已有研究表明，桃蚜 *Myzus persicae* 取食拟南芥 *Arabidopsis* 会激发与植物诱导直接防御有关的反应途径（Moran and Thompson，2001）；俄罗斯蚜 *Diuraphis noxia* 取食后，小麦植株胞间洗液（intercellular wash fluid）可诱导其体内酶活性的改变（Lintle and van der Westhuizen，2002）。

Miles（1965）曾用 Parafilm 膜夹营养液法提取麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* 唾液，获得成功。Miles 和 Harrewijn（1991）也曾指出，蚜虫取食含有蔗糖的食料后能正常分泌唾液，其组分与取食植物时相同。陈巨莲等（2000）用 Parafilm 膜夹营养液法饲养麦长管蚜，同样获得成功。因此，模拟蚜虫的取食条件，能够成功提取到蚜虫唾液，从而更方便地对唾液的组分进行研究。我们已研究表明，麦长管蚜 *Macrosiphum avenae* 取食为害后，小麦植株会产生直接和间接的防御反应（刘勇等，2001；郭光喜和刘勇，2005）。为明确其诱导反应机理，我们对麦长管蚜唾液中可能含有的酶类进行了分离、鉴定和活性分析，并选择麦田 2 种重要的天敌昆虫燕麦蚜茧蜂 *Aphidius avenae* 和七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* 为试虫，进一步明确麦长管蚜唾液中的酶类对天敌行为反应的影响，以期揭示麦长管蚜取食后小麦植株的诱导防御机理。

1　材料与方法

1.1　试虫

供试麦长管蚜和燕麦蚜茧蜂为人工气候室内连续多代饲养，其寄主分别为小麦品种北京 837（由中国农业科学院植物保护研究所小麦害虫研究室提供）和麦长管蚜，选 24 h 内羽化已交配的雌蜂供试。七星瓢虫在玻璃笼罩内以麦长管蚜饲养，选已交配的雌成虫为试虫，试虫大小基本一致。饲养温度（22 ± 1）℃，光周期 16L∶8D，光照强度 4 500 lx。2 种天敌昆虫实验前饥饿 12 h。

1.2　化学试剂及药品

果胶酶、多酚氧化酶和纤维素酶以及丝氨酸、蛋氨酸、天冬氨酸、多巴、琼脂糖、刚果红和果胶均为 Sigma 公司产品；钌红为 Fluka 公司产品；愈创木酚和琼脂粉购自上海化学试剂公司；其他常规药剂均购自国内公司。国产试剂均为分析纯。

1.3　麦长管蚜唾液的提取

以 Parafilm 膜夹营养液法，收集麦长管蚜唾液。取 3 龄若蚜 30 头，饥饿 24 h 后，放入两端开口的玻璃管（直径 2 cm，高 3.5 cm），玻璃管上端覆以两层 Parafilm 膜并在两膜间的空隙内加入液体介质 100 μL，玻璃管下端覆以纱布以保持通气。将玻璃管放入光照培养箱（RXZ 型，宁波江南）（黄光下，温度 25℃ ± 1℃，光周期 16L∶8D）中，待蚜虫取食 24 h 后，收集唾液。然后，在高速冷冻离心机（Biofuge Stratos，Heraeus）中离心 30 min（转速 16 000 r/min，温度 4℃），取上清液，放入 −20℃冰箱中备用。

Miles 和 Harrewijn（1991）与 Tjallingii 和 Cherqui（1999）曾以食料（蔗糖和重蒸水）成功提取了蚜虫唾液，因此本实验选取下列 2 种液体介质提取麦长管蚜唾液。溶液Ⅰ：20%蔗糖，100 mmol/L 丝氨酸，100 mmol/L 蛋氨酸，100 mmol/L 天冬氨酸；溶液Ⅱ：重蒸水。两种食料灭菌后放入 4℃冰箱保存（不超过 7 天），备用。

1.4　2 种介质提取液中麦长管蚜唾液酶种类的鉴定

1.4.1　过氧化物酶的鉴定：参照 Miles 和 Peng（1989）的方法，略加改进。向 30%乙醇中加入 0.03 mL 过氧化氢，再加入 5%愈创木酚。取 100 μL 液体介质提取液，加入相同体积上述溶液，在 30 min 内观察，如果溶液的颜色变为浅红棕色，则表明唾液中含有过氧化物酶。

1.4.2　果胶酶的鉴定：在溶液Ⅰ和溶液Ⅱ中分别加入 0.1%果胶和 0.5%琼脂糖，参照 Tjallingii 和 Cherqui（1999）的方法。用 50 mmol/L 柠檬酸钠配制 pH 6.4 和 pH 5.0 的缓冲液。在 pH 6.4 条件下测定

果胶甲酯酶的活性，在 pH 5.0 条件下测定多聚半乳糖醛酸酶的活性。

取食 24 h 后，移走蚜虫，揭去上层膜，对胶状食料分别进行处理。pH 6.4 时，37℃下放置 4 h；pH 5.0 时，37℃下放置 2 h。然后用 0.01%钌红染色 1 h，再用蒸馏水冲洗，观察颜色变化。在 pH 6.4 下，如果蚜虫取食位点有粉红色斑点现象出现，则表明含有果胶甲酯酶；在 pH 5.0 下，如果蚜虫取食位点出现无色晕圈现象，则表明含有多聚半乳糖醛酸酶。

1.4.3 多酚氧化酶的鉴定：在 1 mL 溶液Ⅰ和溶液Ⅱ中分别加入 0.0125 g 琼脂糖，与 1 mL 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.4）混合，然后再加入 0.1%多巴底物，备用。

参照 Urbanska 等（1998）的方法，并加以改进。取食 24 h 后，移走蚜虫，揭去上层膜，观察食料上表面的颜色变化。如果出现黑色斑点状现象，则说明含有多酚氧化酶。

1.4.4 纤维素酶的鉴定：在溶液Ⅰ和溶液Ⅱ中分别加入 2%琼脂糖，并以 0.1 mol/L 羧甲基纤维素钠作为底物。参照 Cherqui 等（2000）的方法。待蚜虫取食后，取出胶状食料，在 60℃下，于 50 mmol/L 磷酸钠和 12.5 mmol/L 柠檬酸（pH 6.3）中处理 3 h，0.1%刚果红中染色后，再放入 1 mol/L 氯化钠中 1 h。如果出现红色斑点，则说明含有纤维素酶。

1.5 酶活力测定

1.5.1 滴定法测定果胶酶活力：参照谭兴和等（1996）方法，略加改进。取 10 mL 1%果胶溶液，加入 5 mL 介质提取液和 5 mL 蒸馏水，pH 至 3.5，在 50℃下保温 2 h，此液为反应液。取 5 mL 反应液，加热煮沸 2 min，加 1 mL 1 mol/L Na_2CO_3 和 5 mL 0.05 mol/L I_2-KI 溶液，摇匀，于室温下放置 20 min。向上述溶液中加入 2 mL 1 mol/L H_2SO_4，用 0.025 mol/L $Na_2S_2O_3$ 滴定至淡黄色，再加 0.5%淀粉指示剂 1 mL，继续滴定至蓝色消失为止。对照保温前不加酶液，保温后加入未煮沸的酶液。在上述条件下以每毫升酶液每小时催化果胶分解生成 1 mmol 游离半乳糖醛酸的酶量为一个酶活性单位。

$$\text{每毫升酶液的活力单位} = \frac{B-A}{E \times t \times M} \times N \times S \times 0.51$$

式中：B 为对照所消耗的 $Na_2S_2O_3$ 毫升数；A 为试样所消耗的 $Na_2S_2O_3$ 毫升数；N 为 $Na_2S_2O_3$ 的摩尔浓度；0.51 为常数；S 为保温时反应液总体积毫升数；E 为所用酶液毫升数；t 为保温小时数；M 为吸取反应液的毫升数。

1.5.2 紫外分光光度法测定多酚氧化酶活力：参照 Benjamin 和 Montgomery（1973）的方法并略加改进。将 1.5 mL 邻苯二酚（100 mmol/L）加入 1.4 mL Na_2HPO_4-NaH_2PO_4 缓冲液（0.2 mol/L，pH 6.5）中，30℃水浴温育 30 min，加入 0.1 mL 酶液混匀，立即在紫外分光光度计（UV-2450PC 型，日本岛津）上测定 410 nm 处的光密度值在 2 min 内的变化，从变化直线的斜率求得酶活力。在上述条件下，将每分钟每毫克蛋白引起吸光度值改变 0.001 所需的酶量定义为一个酶活力单位（U）。

1.5.3 琼脂扩散法测定纤维素酶活力：参照罗长才等（2003）方法，略加改进。首先绘制葡萄糖标准曲线，测出酶标准品的活力。制作琼脂平板，用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制 0.1%的羧甲基纤维素钠溶液，按 2%的比例加入琼脂粉，加热溶解后倒入直径为 9 cm 的培养皿中，每个培养皿中倒入 15 mL，待其冷却固化后，备用。利用酶标准品做出琼脂扩散法标准曲线。取介质提取液 100 μL 点样，每个样品重复 5 次，经 0.2%刚果红染色后，测定因纤维素酶分解琼脂凝胶所形成透明圈的直径，取其平均值，然后根据标准曲线，即可计算出介质提取液中的纤维素酶活力。

1.6 唾液酶处理麦苗对天敌行为反应的影响

1.6.1 针刺法处理麦苗：分别称取果胶酶、多酚氧化酶和纤维素酶各 10 μg，溶于 1 mL 的蒸馏水中，即取盆栽（高 15 cm，直径 12 cm）2～3 叶期麦苗（确保无蚜虫取食过），用 5# 昆虫针，蘸取酶液，对每株麦苗进行针刺，以针尖刺入少许即可。叶片的正反面、茎部各刺 20 次，每刺 5 次后再回蘸 1 次酶液，并以只蘸蒸馏水为对照。针刺完成后，将麦苗罩于塑料罩内，塑料罩上端用纱布封好，24 h 后用于挥发物的捕集。

1.6.2 吸附法收集挥发物：参照刘勇等（2001）方法，以 Porapark 为吸附剂，分别捕集以蒸馏水和 3 种酶液针刺处理麦苗 2～3 叶期挥发物 120 g。重蒸正己烷洗脱，吹 N_2 浓缩为 1 mL，放入 -20℃冰箱保存，备用。

1.6.3 “Y”型嗅觉仪测定：参照刘勇等（2001）的方法，只是选所捕集的挥发物组分 20 μL 滴于 1 cm^2 的滤纸片上为气味源，以健康麦苗挥发物味源为对照。再由卡方检验，比较差异显著性。

2 结果与分析

2.1 麦长管蚜唾液酶的种类

2.1.1 过氧化物酶：按照上述方法，在蔗糖介质提取液中，观察 30 min，溶液的颜色没显示出浅红棕色，仍为原来的底色（白色），表明蔗糖介质提取液中无过氧化物酶；在水介质提取液中，观察 30 min，溶液的颜色也无任何变化，表明水介质提取液中也不含有过氧化物酶。

2.1.2 果胶酶：以蔗糖介质提取液为试验对象时，在 pH 6.4 条件下，通过 0.01% 钌红染色后，胶状食料上面出现粉红色斑点，表明蔗糖介质提取液中含有果胶酯酶（图 1：A）；在 pH 5.0 条件下，通过 0.01% 钌红染色后，胶状食料上面出现无色的晕圈，表明蚜虫唾液中含有多聚半乳糖醛酸酶（图 1：B）。因此，蔗糖介质提取液中含有多聚半乳糖醛酸酶和果胶酯酶；以水介质提取液为试验对象时，在胶状食料的上表面只有麦长管蚜取食后留下的红点痕迹，没有粉红色斑点和无色的晕圈，因此在水介质提取液中不含有这 2 种酶（图 2：A，B）。

2.1.3 多酚氧化酶：在多巴底物存在下，含蔗糖的胶状食料上表面在蚜虫取食的位点出现了黑色斑点，表明蔗糖介质提取液中含有多酚氧化酶（图 1：C）；在多巴底物存在下，只含水的胶状食料上表面颜色无任何变化，表明在水介质提取液中不含有多酚氧化酶（图 2：C）。

2.1.4 纤维素酶：以蔗糖介质提取液为试验对象时，待蚜虫取食后，把胶状食料取出经刚果红染色后，胶状食料上表面出现了红色斑点现象（白色背景），表明蔗糖介质提取液中含有纤维素酶（图 1：D）；以水介质提取液为试验对象时，食料胶状物经刚果红染色后，在白色背景下，食料上表面也出现了红色斑点现象，表明水介质提取液中也含有纤维素酶（图 2：D）。

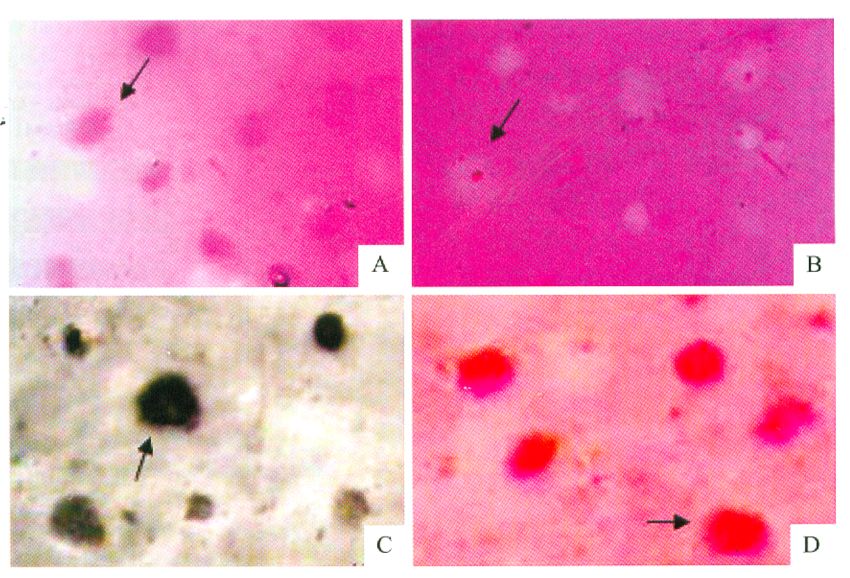


图 1　蔗糖介质提取液中酶类的鉴定

Fig. 1　Identification of salivary enzymes secreted by *Macrosiphum avenae* in sucrose solution

A：红色斑点表明提取液中含有果胶酯酶 Red spots indicate the activity of pectinesterase；B：无色晕圈表明提取液中含有多聚半乳糖醛酸酶 Non-staining halos indicate the activity of polygalacturonase；C：黑色圆斑提取液中含有多酚氧化酶 Black spots indicate the presence of polyphenol oxidase；D：红色圆点表明提取液中含有纤维素酶 Red spots indicated the activity of cellulase.

2.2 麦长管蚜唾液中酶的活力

2.2.1 果胶酶活力：对照消耗掉 $Na_2S_2O_3$ 25.35 mL，试样消耗掉 $Na_2S_2O_3$ 8.65 mL。经计算，100 μL 蔗糖提取液中果胶酶活力为 2.59×10^{-3} U/g，即每 30 头蚜虫所分泌的果胶酶活力为 2.59×10^{-3} U/g。

2.2.2 多酚氧化酶活力：由图 3 可知，直线的斜率为 0.007，则 100 μL 蔗糖提取液中多酚氧化酶活力为 7×10^{-3} U/g。即每 30 头蚜虫所分泌的多酚氧化酶活力为 7×10^{-3} U/g。

2.2.3 纤维素酶活力：由葡萄糖标准曲线（$y = 2.7912x$，$R^2 = 0.9908$）得知纤维素酶标准酶活力为 4.17×10^4 U/g；纤维素酶标准品酶活力与酶解透明圈直径的关系见表 1；琼脂扩散法标准曲线如图 4。经测定，在加样孔中加入水介质提取液时，酶解圈的直径为（0.85 ± 0.038）cm（图 5：A），则水介质提取液中纤维素酶活力为 3.68×10^{-3} U/g；在加样孔中加入蔗糖提取液时，酶解圈的直径为（0.97 ± 0.07）cm（图 5：B），则纤维素酶活力为 7.89×10^{-3} U/g。即每 30 头麦长管蚜以重蒸水作为食料时，所分泌纤维素酶活力为 3.68×10^{-3} U/g；在蔗糖（含氨基酸）作为

食料时,所分泌纤维素酶活力为 7.89×10^{-3} U/g。

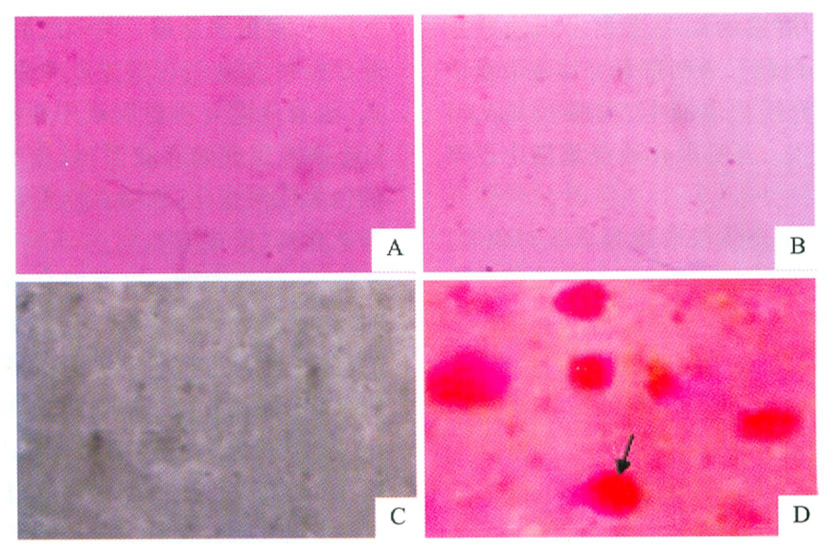


图 2　水介质提取液中酶类的鉴定

Fig. 2　Identification of salivary enzymes secreted by *Macrosiphum avenae* in redistilled water

A, B, C: 无颜色变化 No color had changed; D: 红色圆点表明提取液中含有纤维素酶 Red spots indicate the activity of cellulase.

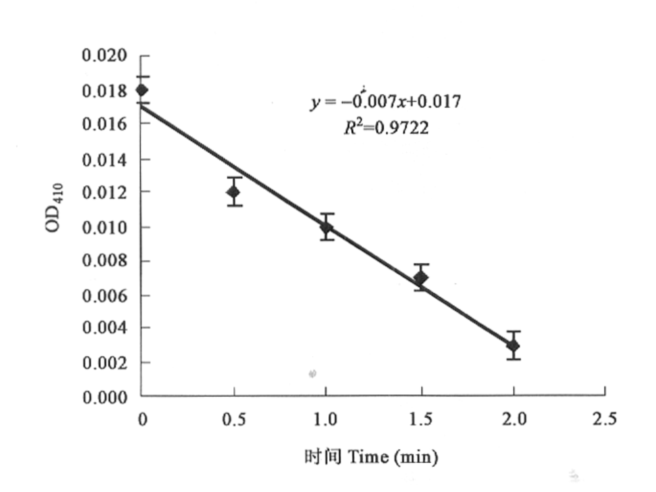


图 3　多酚氧化酶活力在 2 min 内的变化

Fig. 3　Change of the activity of polyphenol oxidase in *Macrosiphum avenae* saliva within 2 minutes

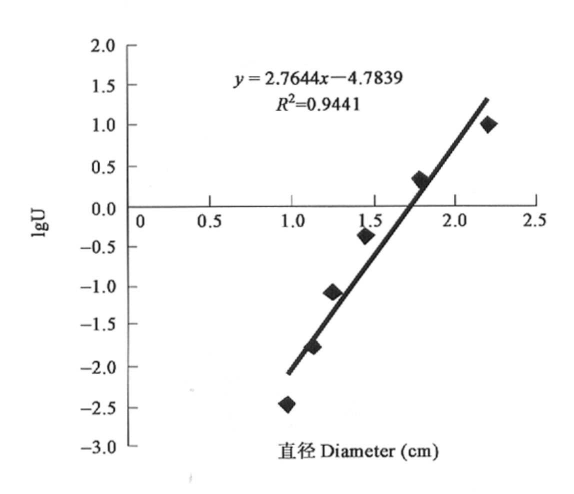


图 4　琼脂扩散法标准曲线

Fig. 4　Standard curve by a cup-plate diffusion assay

表 1　纤维素酶标准品酶活力与酶解透明圈直径

Table 1　Activity of pure cellulase and the diameter of hydrolyzing area

酶活性 Enzyme activity (U/g)	lgU	直径 Diameter (cm)
10.43	1.02	2.21
2.085	0.319	1.78
0.417	-0.380	1.46
0.0834	-1.079	1.25
0.0166	-1.780	1.13
0.00334	-2.477	0.97

2.3 唾液酶处理麦苗对天敌行为反应的影响

"Y"型嗅觉仪测定结果(图 6~7)表明,燕麦蚜茧蜂和七星瓢虫对蒸馏水处理、多酚氧化酶处理和纤维素酶处理麦苗的嗅觉反应与对照相比差异不显著,而此 2 种天敌昆虫对果胶酶处理麦苗的嗅觉反应与对照相比差异显著或极显著,表明麦长管蚜唾液中的果胶酶能引起小麦幼苗的间接防御反应。

3 讨论

本实验采用 2 种液体食料介质提取了麦长管蚜唾液。在蔗糖食料中,测定出果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶、多酚氧化酶和纤维素酶的活性;在重蒸水食料中,只测定出纤维素酶的活性。2 种液体食料介质中都没有鉴定出过氧化物酶的活性。Ma 等(1990)只以水作为食料,并用同样方法在麦二叉蚜

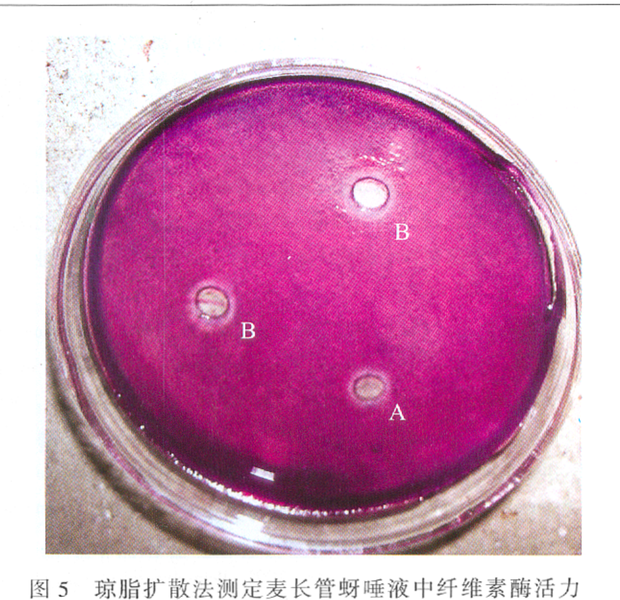


图5 琼脂扩散法测定麦长管蚜唾液中纤维素酶活力

Fig. 5 Determination of the activity of cellulase in *Macrosiphum avenae* saliva by a cup-plate diffusion assay

A：加入100 μL水介质提取液，水解区域直径为0.85 cm Added with 100 μL redistilled water diet, the diameter of hydrolyzing area was 0.85 cm; B：加入100 μL蔗糖介质提取液，水解区域直径为0.97 cm Added with 100 μL sucrose solution diet, the diameter of hydrolyzing area was 0.97 cm.

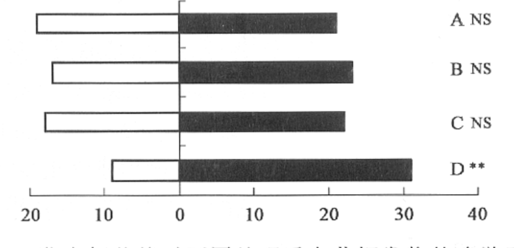


图6 燕麦蚜茧蜂对不同处理后麦苗挥发物的嗅觉反应

Fig. 6 Olfactory responses of *Aphidius avenae* to volatiles of wheat seedlings under different treatments in Y-tube olfactometer

A：蒸馏水处理麦苗 Wheat seedlings treated with distilled water; B：多酚氧化酶处理麦苗 Wheat seedlings treated with polyphenol oxidase; C：纤维素酶处理麦苗 Wheat seedlings treated with cellulase; D：果胶酶处理麦苗 Wheat seedlings treated with pectinase; 白柱代表健康麦苗 White column represents intact seedlings. * $P<0.05$; * * $P<0.01$; NS：差异不显著(χ^2检验) Not significant (χ^2 test). 图7同 The same for Fig.7.

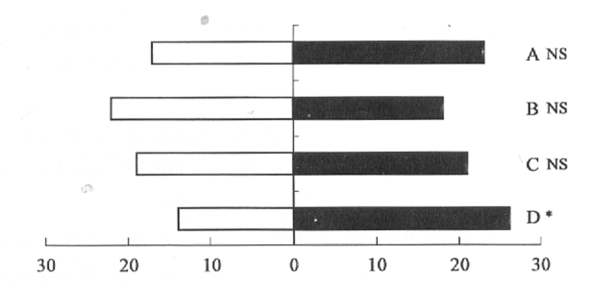


图7 七星瓢虫对不同处理后麦苗挥发物的嗅觉反应

Fig. 7 Olfactory responses of *Coccinella septempunctata* to volatiles of wheat seedlings under different treatments in Y-tube olfactometer

唾液中鉴定出果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶的活性，而结果只在蔗糖提取液中检测到果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶，在水介质提取液中则没有鉴定出两种酶的活性，其原因可能是：(1)麦长管蚜和麦二叉蚜分泌的机理不同，易受寄主不同营养的影响，因此在不同介质中分泌也不同；(2)蚜虫上颚和内唇壁上的化学感受器分别为吸食受体和营养受体。前者可受蔗糖的刺激，后者可感受氨基酸等的刺激。蔗糖食料能较好地模拟筛分子周围的组织，形成与蚜虫自然取食相近的条件。Urbanska等(1998)在麦长管蚜水溶性唾液中也鉴定出了多酚氧化酶活性，但没有鉴定出过氧化物酶的活性，本实验结果与其相同。关于人工食料中鉴定纤维素酶的报道很少，Cherqui和Tjallingii(2000)以同样的方法鉴定桃蚜和麦二叉蚜唾液中的纤维素酶，结果都没有检测到。我们在两种食料中都检测到纤维素酶的活性，其原因可能是麦长管蚜取食时分泌机理与其他蚜虫不同，测到的纤维素酶只是它的复合酶形式，具体它为哪一类型，还需进一步鉴定。

蚜虫唾液中酶类物质与植物的防御必定存在着密切的联系(Miles, 1999)，蚜虫唾液中的果胶酶和纤维素酶其功能可能包括3部分：首先，降解细胞壁组织，使口针的穿刺变得更容易(Miles, 1959)；其次，作为诱导植物产生间接防御反应的潜在诱导因子，使植物产生挥发物以吸引天敌(Ma *et al.*, 1998)；再次，激活植物中的多酚氧化酶，使其充当防御性抗营养蛋白(defensible anti-nutrient protein)(Bucheli, 2001)，使蚜虫消化不良或拒食，从而使植物进行了自我保护。本研究结果证实果胶酶在麦长管蚜取食诱导小麦植株的间接防御反应中具有重要作用。由于果胶酶是一种复合酶，由果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶组成。在小麦植株的诱导间接防御中，是否2种酶都起作用或只有其中1种酶起作用仍需进一步研究。而对于蚜虫自身能够分泌多酚氧化酶的原因，一些人认为蚜虫唾液中多酚氧化酶的主要功能就是对酚类物质进行解毒，从而抑制植物的防御反应(Leszczynski *et al.*, 1990; Miles and Oertli, 1993)。另外，蚜虫唾液中的多酚氧化酶与植物防御的氧化还原反应过程相互联系，健康植株中的氧化还原过程本身处于平衡状态，蚜虫唾液中的酶能改变植物中原有的平衡并使之向有利于蚜虫取食的方向发展(Miles and Oertli, 1993)。

目前，纤维素酶和果胶酶活力测定所采用的方法主要是DNS法，其原理是利用酶水解底物生成还

原性糖的颜色反应来进行测定的。用蔗糖作为食料提取的麦长管蚜唾液中含有蔗糖,蔗糖虽为非还原性糖,但它能水解生成还原性的葡萄糖,能与 DNS 结合,从而影响实验结果。本研究采用了琼脂扩散法测定纤维素酶活力,滴定法测定果胶酶活力可避免以上问题,而且还不受杂质及其他酶的干扰。

参 考 文 献 (References)

Alborn HT, Turlings TCJ, Jones TH, Stenhagen G, Loughrin JH, Tumlinson JH, 1997. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 276: 945 – 949.

Benjamin ND, Montgomery MW, 1973. Polyphenoloxidase of royal ann cherries: purification and characterization. *J. Food Sci.*, 38: 799 – 806.

Bucheli S, 2001. Polyphenol oxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. *Journal of Plant Physiology*, 28(3): 18.

Chen JL, Ni HX, Ding HJ, Sun JR, 2000. Studies on a chemically defined diet of English grain aphid. *Scientia Agricultura Sinica*, 33(3): 54 – 59. [陈巨莲,倪汉祥,丁红建,孙京瑞,2000. 麦长管蚜全纯人工饲料的研究. 中国农业科学, 33(3): 54 – 59]

Cherqui A, Tjallingii WF, 2000. Salivary proteins of aphids, a pilot study on identification, separation and immunolocalisation. *Journal of Insect Physiology*, 46: 1 177 – 1 186.

Cipollini D, Purrington CB, Bergelson J, 2003. Costs of induced responses in plants. *Basic and Applied Ecology*, 4: 79 – 89.

Dicke M, Vet LEM, 1999. Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. In: Oiff H, Briwn VK, Drent RH eds. Herbivores: Between Plants and Predators. Blackwell Science Oxford, UK. 483 – 520.

Felton GW, Eichenseer H, 1999. Herbivore saliva and its effect on plant defense against herbivores and pathogens. In: Agrawal AA, Tuzun S, Bent E eds. Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores. Biochemistry, Ecology and Agriculture. APS Press, St. Paul, MN. 19 – 36.

Guo GX, Liu Y, 2005. Behavioral responses of *Macrosiphum avenae* and *Rhopalosiphum padi* to wheat plant volatiles induced by aphids feeding. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(5): 534 – 536. [郭光喜,刘勇, 2005. 麦长管蚜和禾谷缢管蚜对小麦植株挥发物及蚜害诱导挥发物的行为反应. 昆虫知识, 42(5): 534 – 536]

Halitschke R, Schittko U, Pohnert G, 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore, *Manduca sexta* and its natural host *Nicotiana attenuata*. *Plant Physiology*, 125: 711 – 717.

Karban R, Baldwin IT, 1997. Induced Response to Herbivory. Chicago: Chicago University Press.

Leszczynski B, Cone WW, Wright LG, 1990. Changes in the metabolism of phenolic compounds in the tissues of asparagus plant attacked by the asparagus aphid and the green peach aphid. *Zeszyty. Problemowe. Postepow. Nauk. Rolniczych.*, 392: 247 – 257.

Lintle M, van der Westhuizen, 2002. Glycoproteins from Russian wheat induce defence responses. *Z. Naturforsch.*, 57c: 867 – 873.

Liu Y, Hu C, Ni HX, Sun JR, 2001. Effects of volatiles from different trophic level on foraging behavior of *Aphidius avenae*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 12(4): 581 – 584. [刘勇,胡萃,倪汉祥,孙京瑞, 2001. 不同营养层次挥发物对燕麦蚜茧蜂寄生搜寻行为的影响. 应用生态学报, 12(4): 581 – 584]

Luo CC, Li L, Liu YL, Wang DY, Zhu BC, 2003. Determination of cellulase enzyme activity of diet with disk diffusion. *Industry of Diet*, 4 (10): 39 – 41. [罗长才,李莲,刘亚力,汪黛鹰,朱报常, 2003. 琼脂扩散法测饲料中微量纤维素酶活力的测定. 饲料工业, 24 (10): 39 – 41]

Ma R, Reese JC, Black WC, Bramel-Cox P, 1990. Detection of pectinesterase and polygalacturonase from salivary secretions of living greenbugs, *Schizaphis graminum*. *Journal of Insect Physiology*, 36: 507 – 512.

Ma R, Reese JC, Black WC, Bramel-Cox P, 1998. Chlorophyll loss in a greenbug-susceptible sorghum due to pectinases and pectin fragments. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 71: 51 – 60.

Mattiacci L, Dicke M, Posthumus MA, 1995. Beta-glucosidase – an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts hosts-searching parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 2 036 – 2 040.

Miles PW, 1959. The secretion of two types of saliva by an aphid. *Nature*, 183: 756.

Miles PW, 1965. Studies on the salivary physiology of plant bugs: the saliva of aphids. *Journal of Insect Physiology*, 11: 1 261 – 1 268.

Miles PW, 1999. Aphid saliva. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 74: 41 – 85.

Miles PW, Harrewijn P, 1991. Discharge by aphids of soluble secretions into dietary sources. *Entomologia Experimentalis et Application*, 59: 123 – 134.

Miles PW, Oertli JJ, 1993. The significance of antioxidants in the aphid-plant interaction: the redox hypothesis. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 67: 285 – 273.

Miles PW, Peng Z, 1989. Studies on the salivary physiology of plant bugs: Detoxification of phytochemicals by the salivary peroxidase of aphids. *Journal of Insect Physiology*, 35: 865 – 872.

Moran PJ, Thompson GA, 2001. Molecular responses to aphid feeding in arabidopsis in relation to plant defense pathways. *American Society of Plant Physiologists*, 125(2): 1 074 – 1 085.

Tan XH, Wang RC, Jin YH, Wang FR, 1996. Research of determination of pectinase activity in fruits and vegetable. *China Fruit Research*, (4): 28 – 29. [谭兴和,王仁才,金阳海,王飞仁, 1996. 果品蔬菜中果胶酶活性测定方法的探讨. 中国果品研究, (4): 28 – 29]

Tjallingii WF, Cherqui A, 1999. Aphid saliva and aphid-plant interactions. *Experimental and Applied Entomology*, 10: 169 – 174.

Turlings TCJ, Alborn HT, Loughrin JH, 2000. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: Isolation and bioactivity. *J. Chem. Ecol.*, 26(1): 189 – 202.

Urbanska A, Tjallingii WF, Dixon AFG, Leszczynski B, 1998. Phenol oxidizing enzymes in the grain aphid's saliva. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86: 197 – 203.

Zangerl A, 2003. Evolution of induced plant response to herbivores. *Basic and Applied Ecology*, 4: 91 – 103.

(责任编辑:黄玲巧)